

Artigo

Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório**Coutinho, Marcela A. S.; Muzitano, Michele F.; Costa, Sônia S.****Rev. Virtual Quim.*, 2009, 1 (3), 241-256. Data de publicação na Web: 26 de Junho de 2009<http://www.uff.br/rvq>**Flavonoids: Potential Therapeutic Agents for the Inflammatory Process**

Abstract: The inflammatory process, involved in several pathologies, is the natural response of the organism to an infection or to tissue injury. It comprises basically two defense mechanisms: an unspecific response (innate response), responsible for common characteristics of inflammation (redness, edema, a sense of heat, pain and loss of function) and an immunological response that involves the production of specific antibodies against an aggressor agent. The inflammatory response is not always sufficient and the process can progress to a state of chronic inflammation.

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are nowadays the main family of medicaments used to treat inflammation but they frequently show gastric and cardiovascular side effects. This situation is an incentive towards a search for new molecules for the treatment of inflammation.

Many Brazilian plants are popularly used against inflammatory processes, and are therefore potential sources of new bioactive molecules. Among the different chemical classes of bioactive natural products, flavonoids - a group of polyphenolic compounds – show special promise. Flavonoids are widely distributed throughout the plant kingdom and are pharmacologically important, particularly for their action on inflammation and the immune system.

In this paper different aspects of the inflammatory process and its treatment are described, with a special focus on the anti-inflammatory activity of flavonoids. A brief evaluation of the structure-activity relationship is presented.

Keywords: inflammation; anti-inflammatory; natural products; flavonoids; quercetin

*Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos (LPN-Bio), Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Cidade Universitária, Bloco H, CEP 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

✉ sscbh@terra.com.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20090024](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20090024)

Resumo

O processo inflamatório, envolvido em diversas patologias, é uma resposta do organismo frente a uma infecção ou a uma injúria tecidual. Compreende basicamente dois mecanismos de defesa: uma resposta inespecífica (resposta inata), responsável pelas características da região inflamada (vermelhidão, edema, calor, dor e perda de função) e uma resposta imunológica, na qual há produção de anticorpos específicos contra um determinado agente agressor. Nem sempre a resposta inflamatória inicial é suficiente e o processo pode evoluir para um estado de inflamação crônica.



Apesar da grande incidência de efeitos colaterais gastroduodenais e cardiovasculares, o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) é atualmente a principal abordagem terapêutica para as reações inflamatórias. Tal situação estimula a busca por novas moléculas, potencialmente úteis no tratamento da inflamação.

A riqueza da flora brasileira, no que diz respeito às plantas empregadas popularmente contra processos inflamatórios, propicia essa busca por novas moléculas bioativas. Dentre as diversas classes de produtos naturais bioativos, os flavonoides - grupo de substâncias polifenólicas - estão em destaque. Os flavonoides são amplamente distribuídos pelo reino vegetal e notáveis por suas diversificadas ações biológicas, dentre elas a capacidade de agir sobre a inflamação e sobre o sistema imunológico - o que lhes confere um enorme potencial farmacológico. Dessa forma, os flavonoides representam uma alternativa promissora frente aos processos inflamatórios.

Neste artigo serão abordados diferentes aspectos do processo inflamatório e tratamentos, com especial enfoque na atividade anti-inflamatória de flavonoides. Uma breve avaliação da relação estrutura-atividade é apresentada.

Palavras-chave: inflamação; anti-inflamatório; produtos naturais; flavonoides; quercetina

* Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos (LPN-Bio), Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Cidade Universitária, Bloco H, CEP 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

✉ sscbh@terra.com.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20090024](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20090024)

Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório

Marcela A. S. Coutinho,^a Michelle F. Muzitano,^b Sônia S. Costa*^a

^aLaboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos (LPN-Bio), Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Cidade Universitária, Bloco H, CEP 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^bLaboratório de Biologia do Reconhecer, Centro de Biotecnologia e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, CEP 28013-602, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

* sscbh@terra.com.br

Recebido em 30 de Abril de 2009; Aceito em 22 de Junho de 2009

1. O processo inflamatório
2. Fármacos de uso clínico
3. Substâncias de origem vegetal com atividade anti-inflamatória
4. Relatos de flavonoides com atividade anti-inflamatória
5. Relação estrutura-atividade
6. Conclusões

1. O processo inflamatório

O processo inflamatório está envolvido em diversas patologias, tais como contusões, tendinites, infecções respiratórias, asma e doenças autoimunes. Apresenta-se como um mecanismo de defesa do organismo, cujo objetivo é a eliminação da causa inicial da lesão celular, provocada por patógenos ou por ação de agentes físicos.¹

A área inflamada, em nível macroscópico, exibe características marcantes. A região atingida torna-se avermelhada, edemaciada, quente e dolorosa, havendo interferência ou alteração da sua função. O resultado final do processo inflamatório pode ser a cura ou a inflamação crônica - se a resposta não for suficiente, o patógeno ou a substância nociva persistirem e o processo evoluir.²

A resposta inflamatória inicial é inespecífica, independente do tipo da agressão. Os eventos que se seguem após essa reação inicial dependem de fatores associados ao agente agressor e ao próprio tecido agredido. Dessa forma, a inflamação pode mostrar uma variedade de quadros clínicos. Basicamente, a reação inflamatória consiste de: uma reação inata e uma resposta imune específica.

1.1. Fisiopatologia da inflamação

a) Reação inata (inespecífica)

As reações inatas ocorrem localmente, no interior dos tecidos, podendo se dividir em eventos vasculares e em eventos celulares. Os fenômenos vasculares caracterizam-se por alterações no calibre vascular, que provocam um aumento no fluxo sanguíneo (calor) e por alterações na permeabilidade vascular,

conduzindo ao extravasamento de exsudato para o interstício, com consequente formação de edema.² A vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular com exsudação são provocados por mediadores, produzidos a partir do plasma e das células. Tais mediadores, agindo isoladamente, em conjunto, ou em sequência, amplificam a resposta inflamatória e influenciam sua evolução.¹ Já nos eventos celulares, as células envolvidas estão normalmente presentes nos tecidos (como células endoteliais e macrófagos) ou têm acesso ao local a partir da circulação (por exemplo, plaquetas e leucócitos).³

Os leucócitos circulantes aderem-se ao endotélio vascular e transmigram para o tecido intersticial em direção ao local da lesão, sob sinalização de agentes quimiotáticos (por exemplo, citocinas e leucotrienos). Em seguida, os leucócitos fagocitam o agente agressor e degradam o tecido necrótico (Figura 1).^{1,3}

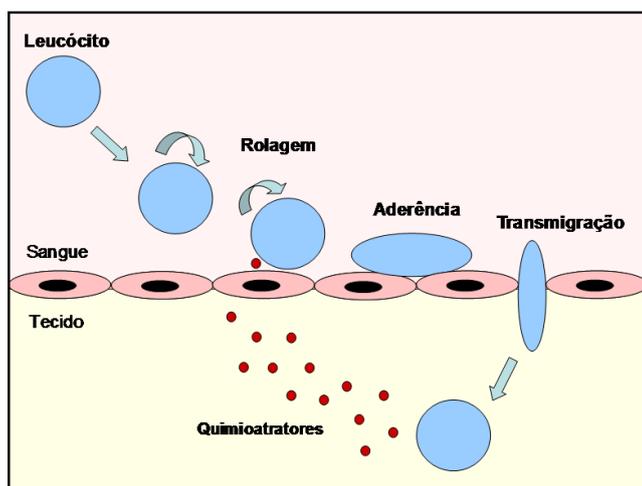


Figura 1. Esquema ilustrativo da migração de leucócitos através do endotélio vascular

b) Reação específica

A resposta imunológica específica ou adaptativa auxilia a resposta inata, visto que é específica contra um determinado patógeno invasor. Os anticorpos produzidos pelos linfócitos durante este tipo de resposta imunológica melhoram acentuadamente a resposta do organismo hospedeiro.³ Entretanto, como os anticorpos não podem alcançar os patógenos quando estes se encontram no interior das células, foram desenvolvidos mecanismos imunes mediados por células. Desta forma, os linfócitos envolvidos migram para a área inflamada através de sua interação com as moléculas de adesão e as células endoteliais.³

1.2. Mediadores do processo inflamatório

A exposição das células aos patógenos e a lesão tecidual resultam na produção e na liberação de diversos mediadores químicos, responsáveis pelas características da área inflamada. Dentre os mediadores da inflamação, encontram-se histamina, metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, bradicinina, óxido nítrico, neuropeptídeos e citocinas.^{1,4} A seguir são detalhados os principais mediadores envolvidos no processo inflamatório.

a) Metabólitos do ácido araquidônico

Através de estímulos mecânicos, químicos, físicos ou através de outros mediadores, os fosfolipídios das membranas celulares liberam o ácido araquidônico, a partir da ativação da enzima fosfolipase A₂.¹ O ácido araquidônico livre pode ser metabolizado por duas classes principais de enzimas: pelas ciclo-oxigenases (COX), sendo a isoforma COX-2 a envolvida na inflamação, iniciando a biossíntese de prostaglandinas e tromboxanos (prostanoides) e pelas lipo-oxigenases (LOX), originando a biossíntese de leucotrienos (LT).^{4,5}

Os prostanoides mais importantes na inflamação são: PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, PGI₂ (prostaciclina) e TXA₂. A prostaciclina possui ação vasodilatadora, além de potencializar os efeitos quimiotáticos e aumentar a permeabilidade de outros mediadores. As prostaglandinas PGE₂, PGD₂ e PGF_{2α} também são vasodilatadoras, além de exacerbarem o edema. Além disso, as prostaglandinas também estão envolvidas na patogenia da dor e da febre durante a inflamação - por exemplo, PGE₂ torna a pele hipersensível a estímulos dolorosos.^{1,6}

Por sua vez, LTB₄ é o principal leucotrieno envolvido no processo inflamatório. Exerce potente atividade quimiotática para leucócitos, eosinófilos e monócitos, promovendo a migração destes tipos celulares para o local afetado. Uma vez no sítio, os leucotrienos ativam as células da série branca, promovendo a desgranulação e a produção de superóxidos, que contribuem para os danos teciduais característicos da inflamação. Os leucotrienos C₄, D₄ e E₄ (LC₄, LD₄ e LE₄) aumentam a permeabilidade vascular.¹

b) Óxido Nítrico (NO)

O óxido nítrico (NO), produzido principalmente pelas células endoteliais do tecido lesionado, possui potente ação vasodilatadora - o que leva a um

aumento da permeabilidade vascular. Além disso, atua como regulador do recrutamento de leucócitos e exerce ação citotóxica contra micro-organismos. É sintetizado pela NO sintase (NOS), enzima presente em três isoformas, sendo a forma indutível (iNOS) a envolvida nas reações inflamatórias. Esta é induzida em macrófagos e em outras células durante o processo.^{1,6}

c) Citocinas

Durante as reações imunes e inflamatórias, as citocinas são liberadas de forma a regular a ação das células destes sistemas. Destacam-se as citocinas pró-inflamatórias TNF- α (Fator de Necrose Tumoral α) e IL-1 (Interleucina-1), liberadas por macrófagos ativados e vários outros tipos celulares. Estas citocinas favorecem a aderência leucocitária ao endotélio, aumentam a síntese de prostaciclina e desencadeiam uma cascata de citocinas secundárias, dentre outras ações. Já as citocinas secundárias (por exemplo, as quimiocinas) atraem e ativam as células inflamatórias móveis.^{1,7}

2. Fármacos de uso clínico

Os fármacos anti-inflamatórios são capazes de interferir no processo reacional de defesa do organismo, minimizando os danos e proporcionando maior conforto ao paciente. Atualmente, os principais agentes anti-inflamatórios são representados pelos glicocorticoides e pelos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs).⁴

2.1. Glicocorticoides

A ação anti-inflamatória dos glicocorticoides deve-se, em grande parte, à inibição da transcrição do gene da enzima ciclo-oxigenase-2 e à indução da proteína lipocortina, inibidora da enzima fosfolipase A₂.⁴ Além disso, reduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α e IL-1.⁸

São muito utilizados na terapia das doenças autoimunes e na prevenção e/ou tratamento da rejeição de transplantes. Como exemplos de glicocorticoides, podem-se citar a hidrocortisona (1) e a dexametasona (2). (Figura 2).⁴

Entretanto, a toxicidade associada à terapia crônica com os glicocorticoides limita o seu uso.⁴ Assim, os principais fármacos utilizados no

tratamento dos sintomas da inflamação são os anti-inflamatórios não esteroidais.

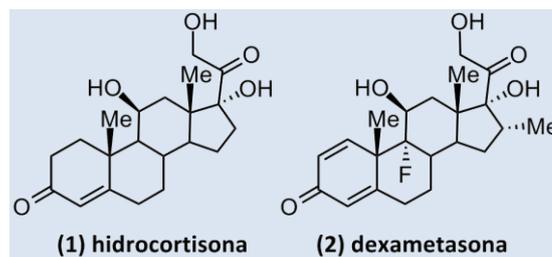


Figura 2. Glicocorticoides hidrocortisona e dexametasona

2.2 Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)

Os AINEs são os agentes anti-inflamatórios mais utilizados na terapêutica. Atuam inibindo a enzima ciclo-oxigenase (COX), impedindo a formação de prostaglandinas, e de tromboxanos, mediadores do processo inflamatório.⁴

Atualmente são conhecidas três isoformas da enzima ciclo-oxigenase (COX-1, COX-2 e COX-3). Duas delas, COX-1 e COX-2, possuem aplicação terapêutica. A isoforma COX-1 é expressa constitutivamente na maioria dos tecidos, incluindo plaquetas e estômago e está envolvida na sinalização entre células e na homeostasia tecidual. A isoforma COX-2 é induzida principalmente nas células inflamatórias, quando estas são ativadas durante a inflamação e tende a facilitar a resposta inflamatória. Entretanto, no cérebro, rins e alguns outros tecidos, a COX-2 é expressa constitutivamente.^{4,5} Por sua vez, a isoforma COX-3 é uma variante do gene da COX-1, através da ocorrência de um *splicing* alternativo. Sabe-se que esta isoforma é mais abundante no coração e no córtex cerebral, porém esforços vem sendo realizados a fim de se obter maiores informações a respeito de sua função e modulação.⁹

Muitos AINEs inibem ambas as isoformas COX-1 e COX-2 (inibição não seletiva). O AINE mais antigo é a Aspirina® (ácido acetilsalicílico), um derivado do ácido salicílico. Este, por sua vez, é um derivado da salicina, obtida originalmente das cascas do tronco do salgueiro (*Salix alba*, Salicaceae, Figura 3).¹⁰ Além da Aspirina® (3), outros anti-inflamatórios não esteroidais se destacam. Entre eles se encontram o ibuprofeno (4), o diclofenaco (5) e o piroxicam (6), todos inibidores não seletivos da COX (Figura 4).^{4,5}

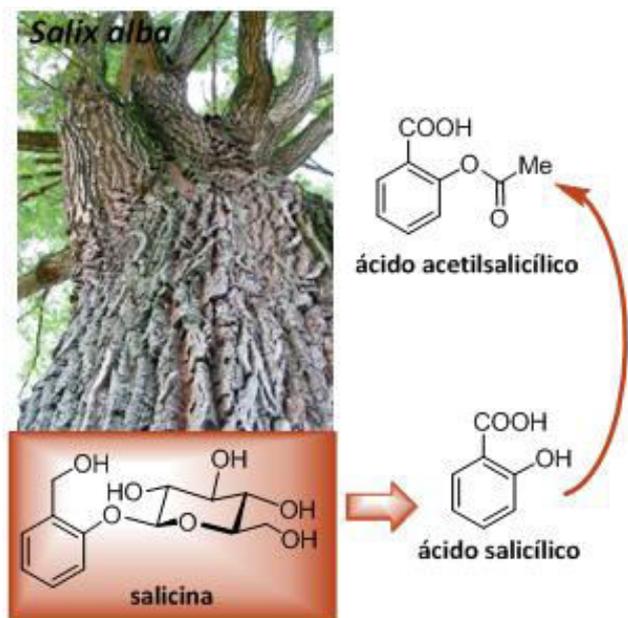


Figura 3. *Salix alba* e o ácido acetilsalicílico
[Foto: Copyright © 2006 Hans-Cees Speel¹¹]

Os AINEs não seletivos podem apresentar diversos efeitos colaterais, dentre os quais o mais importante é a tendência a produzir ulceração gástrica e duodenal. Este efeito colateral pode ser explicado pelo fato da inibição da COX-1 constitutivamente expressa no estômago resultar no bloqueio da biossíntese de importantes prostaglandinas (PGE₂ e PGI₂) envolvidas na citoproteção gástrica.^{4,5}

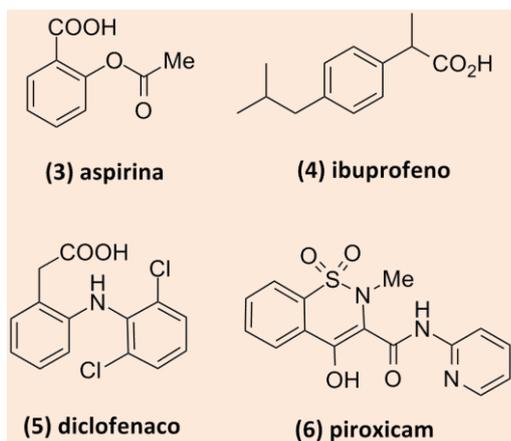


Figura 4. Exemplos de AINEs não seletivos

A fim de se evitar esses efeitos adversos gastrointestinais causados pelos inibidores da COX-1, foram introduzidos no mercado os inibidores seletivos para COX-2. Os primeiros AINEs seletivos para esta isoforma foram o celecoxibe (Celebrex®) (7) e o rofecoxibe (Vioxx®) (8). Outros fármacos também mostram ser mais seletivos para COX-2 do que para

COX-1, como por exemplo, nimesulida (9) e etodolaco (10) (Figura 5).⁵

Apesar da diminuição na incidência de complicações gástricas com o uso de inibidores seletivos da COX-2, estes fármacos também podem causar problemas, tais como doenças cardiovasculares e renais. Além disso, em doses altas também são capazes de causar dano gastrointestinal.¹²

Em 2004, devido ao aumento de vítimas com problemas cardiovasculares, o rofecoxib (Vioxx®) foi retirado do mercado. Desde então, as bulas dos inibidores seletivos da COX-2 são obrigadas a prevenir o paciente do risco de efeitos colaterais cardiovasculares.⁵ Além disso, recentemente, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária aumentou o controle sobre a venda dos AINEs seletivos para COX-2, publicando a inclusão de seus fármacos na lista de substâncias sob controle especial (Lista C1 da Portaria 344/98) - Resolução RDC nº. 79, de 04 de novembro de 2008. Os anti-inflamatórios só podem ser vendidos com retenção da receita médica pelo estabelecimento farmacêutico.¹³

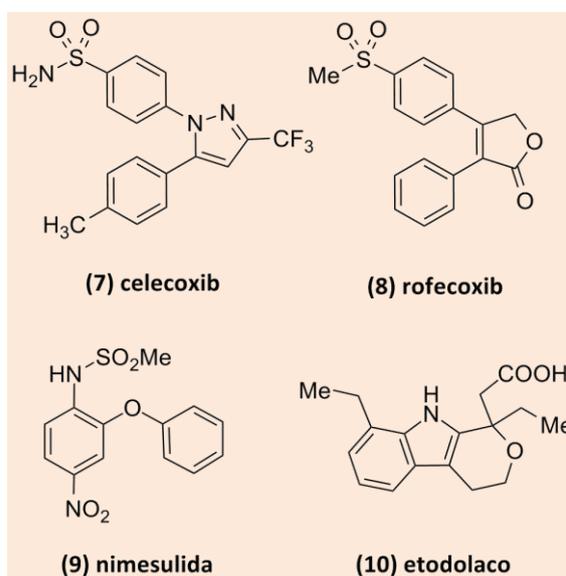


Figura 5. Exemplos de AINEs seletivos da isoforma COX-2

Assim, observa-se que grande parte dos AINEs do mercado possuem efeitos indesejáveis significativos. A necessidade por novos medicamentos anti-inflamatórios contribui para o avanço da pesquisa por novas moléculas, mais seguras, eficazes e com menos efeitos colaterais.

3. Substâncias de origem vegetal com atividade anti-inflamatória

A descoberta de novos fármacos a partir de plantas conduziu ao isolamento de muitas substâncias que ainda hoje são utilizadas clinicamente,¹⁴ ou então serviram como protótipos para a síntese de novos fármacos.^{10,15} Estima-se que 40% dos medicamentos disponíveis na terapêutica atual foram desenvolvidos a partir de fontes naturais: 25% de plantas, 13% de micro-organismos e 3% de animais. Dos fármacos aprovados no período entre 1981 e 2002, cerca de 60% eram produtos naturais ou foram desenvolvidos a partir destes.^{16,17}

Um exemplo recente é o anti-inflamatório fitoterápico Acheflan[®], indicado no tratamento local de processos inflamatórios. Produto oriundo de pesquisa 100% nacional é encontrado nas formas farmacêuticas de aerosol e de creme, cada uma contendo 5,0 mg do óleo essencial de erva-baleeira (*Cordia verbenacea*, Boraginaceae), padronizado em 2,3-2,9% do terpeno α -humuleno.¹⁸ Um outro exemplo é o Daflon 500 mg[®], medicamento composto por fração flavonoídica purificada, sob forma micronizada contendo 450 mg de diosmina e 50 mg de flavonoides titulados em hesperidina. Apresenta ação venotônica e vasoprotetora.¹⁹

Substâncias de origem vegetal, pertencentes às mais diversas classes químicas, possuem atividade anti-inflamatória comprovada cientificamente. Dentre

elas, destacam-se terpenos,²⁰⁻²² taninos,²⁰ alcaloides,^{20,23,24} lignanas,^{25,26} saponinas,²⁰ cumarinas²⁷ e flavonoides.^{8,20,28-30}

3.1. Flavonoides

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de metabólitos secundários é amplamente distribuída no reino vegetal.²⁰ São encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e em seus produtos de preparação, tais como os chás e vinhos.³¹ Apresentam um núcleo característico C6-C3-C6, sendo biossintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e do ácido acético.³²

A diversidade estrutural dos flavonoides pode ser atribuída ao nível de oxidação e às variações no esqueleto carbônico básico, promovidas por reações de alquilação, glicosilação ou oligomerização.³³ Os flavonoides podem ser encontrados como agliconas ou sob a forma de glicosídeos e/ou derivados metilados e/ou acilados.^{20,29,30} As modificações no anel central dessas substâncias levam à diferenciação em subclasses distintas, tais como: chalconas, flavanonas, flavanonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas.^{30,34} As estruturas dos esqueletos básicos de flavonoides são mostradas na Figura 6.

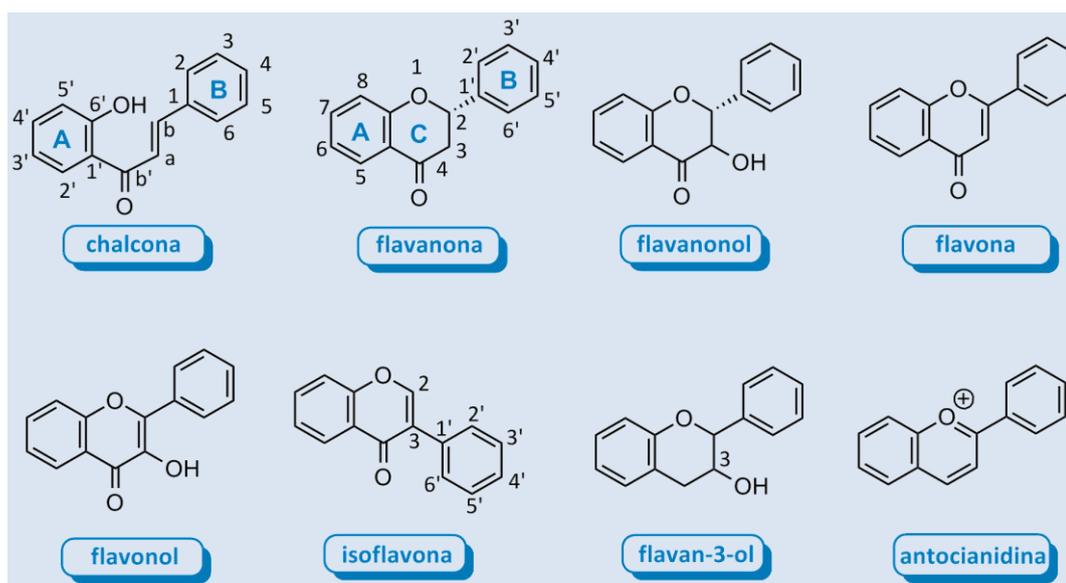


Figura 6. Esqueletos básicos de flavonoides

Diversas atividades biológicas são atribuídas a essa classe de polifenóis, tais como atividade antitumoral, antioxidante, antiviral e anti-inflamatória, dentre outras,^{20,28-30,32} o que lhe confere significativa

importância farmacológica. Dentre os 40 fármacos anti-inflamatórios aprovados entre 1983 e 1994, 12 foram derivados ou baseados em polifenóis de origem natural.³⁵

Em relação à atividade anti-inflamatória, os flavonoides atuam modulando células envolvidas com a inflamação (por exemplo, inibindo a proliferação de linfócitos T), inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (por exemplo, TNF- α e IL-1), modulando a atividade das enzimas da via do ácido araquidônico, tais como fosfolipase A₂, ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase, além de modularem a enzima formadora de óxido nítrico, a óxido nítrico sintase induzida (iNOS).^{7,8,28,29,32,36}

4. Relatos de flavonoides com atividade anti-inflamatória

Há diversos relatos de flavonoides, abundantes em frutas, verduras, legumes e plantas medicinais, que apresentam as ações anti-inflamatórias descritas anteriormente.^{8,28,32,35-37}

Um grande número de grupos de pesquisa vem contribuindo significativamente para o desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas, através da interação com a farmacologia. A descoberta de alvos terapêuticos no processo

inflamatório e estudos de modelagem molecular relacionando a estrutura-atividade apresentam-se como importantes ferramentas na busca e na avaliação das novas moléculas.

Na triagem da ação anti-inflamatória são utilizados diversos métodos *in vitro* e *in vivo*. Os ensaios *in vitro* são realizados em cultura de células e objetivam verificar se o flavonoide é capaz de reduzir ou até mesmo inibir a formação de mediadores, a produção de enzimas e citocinas envolvidas, a proliferação de linfócitos, dentre outros. Já os ensaios *in vivo* utilizam agentes indutores de inflamação nos animais de laboratório (por exemplo: carragenina, PMA – Acetato de Miristato de Forbol, e TPA - 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato), visando avaliar se o flavonoide é capaz de inibir/ reduzir a formação do edema, a migração das células de defesa, a formação de mediadores e enzimas, dentre outros.

Quercetina (11) e kaempferol (12) - flavonóis amplamente distribuídos pelo reino vegetal - apresentam significativa ação anti-inflamatória, que pode ser atribuída à inibição das enzimas fosfolipase A₂ (PLA₂),⁸ lipo-oxigenase, ciclo-oxigenase e inibição da produção de óxido nítrico, através da modulação da enzima iNOS.^{35,37}

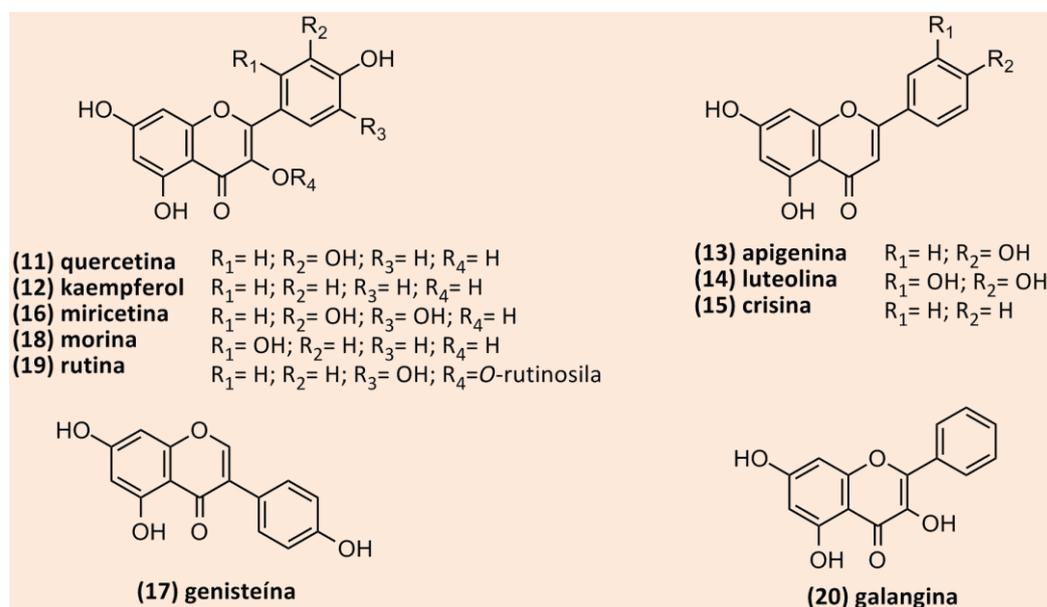


Figura 7. Exemplos de flavonoides com atividade anti-inflamatória

Vários outros flavonoides também são capazes de diminuir a produção de NO e a expressão da enzima iNOS, dentre os quais podemos citar as flavonas apigenina (13), luteolina (14), crisina (15), o flavonol miricetina (16) e a isoflavona genisteína (17).^{32,37} Alguns também são conhecidos pela inibição da enzima lipo-oxigenase - tais como os flavonóis morina

(18) e miricetina, e outros pela inibição da enzima ciclo-oxigenase - tais como as flavonas crisina, apigenina, luteolina e os flavonóis morina, rutina (19) e galangina (20) (Figura 7).^{32,35,38}

Em relação à atividade inibitória da enzima fosfolipase A₂, além de quercetina e kaempferol, destacam-se também miricetina e as flavanonas

hesperetina (21) e naringenina (22).³² Os flavonoides genisteína, quercetina, luteolina, apigenina e rutina são capazes de inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias (por exemplo, TNF- α e IL-1).^{7,8,32} Um exemplo de flavonoide com atividade inibidora da formação de exsudato pleural em ratos com pleurite induzida por carragenina é a ternatina (23).³⁹

Adicionalmente, há relatos de que as agliconas quercetina, luteolina, apigenina, miricetina e os glicosídeos baohuosídeo (24) e plantagosídeo (25) reduziram significativamente a proliferação de leucócitos murinos estimulados por concanavalina A (Figura 8).^{7,40,41}

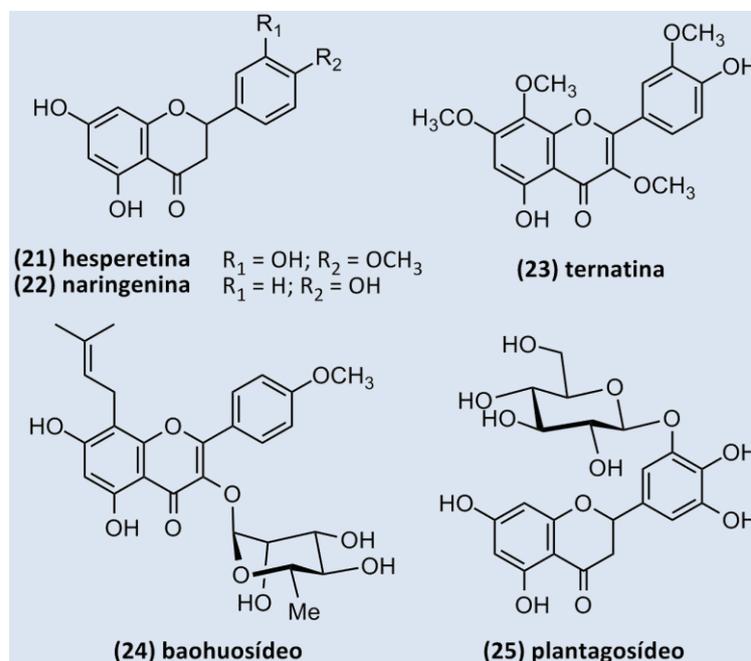


Figura 8. Flavonoides bioativos

Os flavonoides centaureidina (26), 5,3'-di-hidróxi-4'-metoxi-7-carbometoxiflavonol (27),⁴² santina (5,7-di-hidróxi-3,6,4'-trimetoxiflavona) (28) e ermanina (5,7-di-hidróxi-3,4'-dimetoxiflavona) (29) foram

isolados das partes aéreas de *Tanacetum microphyllum* DC. (Asteraceae), espécie largamente utilizada na Espanha em casos de inflamações e reumatismo (Figura 9).⁴³

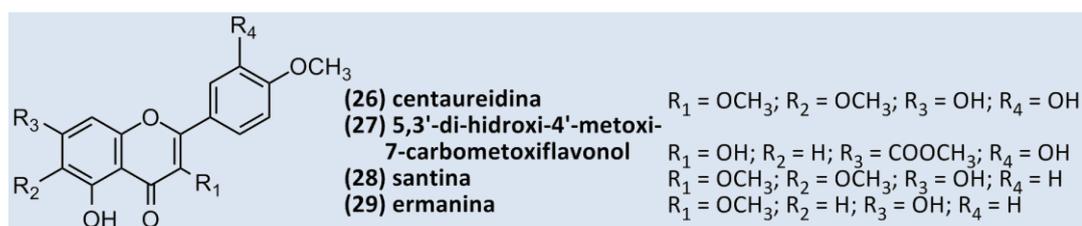


Figura 9. Flavonoides de *Tanacetum microphyllum*

Santina e ermanina inibiram o desenvolvimento de edema de orelha induzido por PMA em camundongos, sendo mais ativos do que indometacina, fármaco controle, na mesma concentração (3 mg/orelha, via tópica). Em uma hora de exposição, santina inibiu a inflamação em 80,5%, ermanina em 95,1% e indometacina em 47,3%.⁴³ Após administração oral, centaureidina e 5,3'-di-hidróxi-4'-metoxi-7-carbometoxiflavonol foram eficazes na inibição de formação de edema na pata de camundongo, induzido por carragenina. Apresentaram, em dose

menor, atividade maior do que fenilbutazona, fármaco controle. Centaureidina (25 mg/kg) inibiu o edema em 67,6%, o flavonoide carboxilado (10 mg/kg) em 64,9% e fenilbutazona (80 mg/kg) em 51,4%.⁴² Também se mostraram eficazes na inibição *in vitro* da lipo-oxigenase (centaureidina - $IC_{50} = 20 \mu M$; flavonoide carboxilado - $IC_{50} = 29 \mu M$). A resposta foi similar à obtida pelo fármaco de referência, sugerindo que a atividade anti-inflamatória esteja relacionada, pelo menos em parte, à inibição da síntese de leucotrienos.⁴⁴

A partir do extrato em diclorometano das partes aéreas de *Eupatorium arnotianum* Griseb. (Asteraceae), espécie utilizada popularmente na Argentina e no sul da Bolívia no tratamento tópico de processos inflamatórios, foram isoladas duas flavonas ativas: nepetina (30) e jaceosidina (31) (Figura 10). Nepetina reduziu em 46,9% a formação de edema induzido por TPA em orelha de camundongo e jaceosidina em 23,2% (1 mg/orelha, via tópica). Em ensaio *in vitro*, estes flavonoides também inibiram a indução de NF κ B, fator de transcrição que regula a resposta imune frente a um processo inflamatório, em 91 e 77%, respectivamente (nepetina: 40 μ M; jaceosidina: 20 μ M).⁴⁵

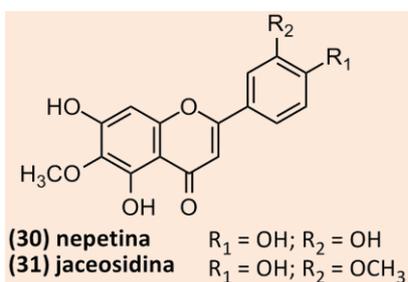


Figura 10. Flavonas ativas de *Eupatorium arnotianum*

Em ensaio de inflamação das vias aéreas, foi observado que o flavonoide isoquercitrina (quercetina-3-*O*- β -D-glucopiranosídeo) (32) também apresentou atividade anti-inflamatória, juntamente com quercetina (11). Após administração por via parenteral, isoquercitrina (15 mg/kg) e quercetina (10 mg/kg) reduziram o recrutamento de eosinófilos e a formação de leucotrienos indutores de broncoconstrição, em modelo de asma induzida em camundongos. Dessa forma, ambos os flavonoides parecem potencialmente promissores no desenvolvimento de uma nova terapia antiasma.⁴⁶

Recentemente, células epiteliais de gengiva humana foram estimuladas com *Porphyromonas gingivalis*, patógeno que gera inflamação e destruição do tecido periodontal. Isoquercitrina (32) e astragalina (kaempferol-3-*O*- β -glucopiranosídeo) (33) (Figura 11) apresentaram atividade anti-inflamatória significativa frente à bactéria *P. gingivalis*. Ambos os flavonoides, nas concentrações de 10 e 25 μ g/mL,

inibiram a produção de PGE₂ induzida pela bactéria. Estes flavonoides poderão vir a ser úteis na prevenção de periodontites.⁴⁷

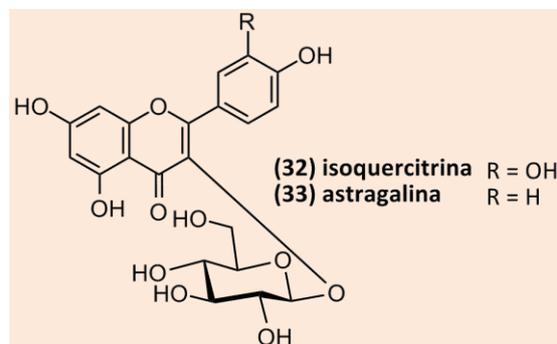


Figura 11. Isoquercitrina e astragalina: relatos de atividade anti-inflamatória

No contexto da busca de flavonoides bioativos a partir de fontes vegetais, nosso grupo de pesquisa vem estudando plantas medicinais utilizadas popularmente no tratamento de patologias que envolvam processos inflamatórios e desordens do sistema imune. Alguns dos nossos resultados são relatados a seguir.

Em um projeto interdisciplinar - química e farmacologia - entre nossa equipe e o Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ, foi realizado um estudo fitoquímico bioguiado sobre a espécie medicinal *Sedum dendroideum* (Crassulaceae), conhecida popularmente como bálsamo (Figura 15).

O sumo das folhas desta espécie é amplamente empregado no Brasil para tratamento de problemas inflamatórios, em especial, feridas infectadas e úlceras gástricas. A partir do sumo do bálsamo foi possível isolar sete glicosídeos de kaempferol, dentre os quais se destacam: kaempferol 3-*O*- α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -glucopiranosídeo-7-*O*- α -glucopiranosídeo (34), kaempferol 7-*O*- α -L-ramnopiranosídeo (35), kaempferol 3-*O*- α -ramnopiranosídeo-7-*O*- α -ramnopiranosídeo (kaempferitrina) (36) e kaempferol 3-*O*- β -glucopiranosídeo-7-*O*- α -ramnopiranosídeo (37) (Figura 12).^{48,49}

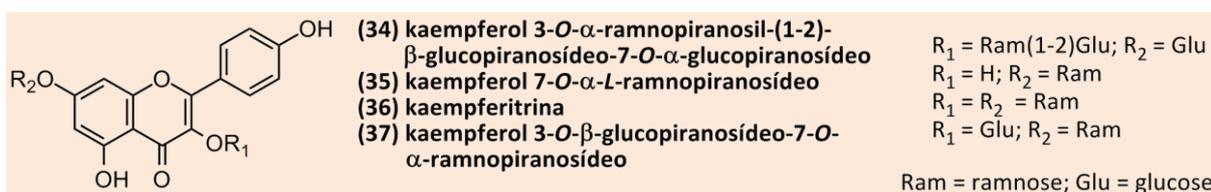


Figura 12. Flavonoides obtidos de *Sedum dendroideum*

Os flavonoides (35), (36) e (37) foram avaliados individualmente quanto à atividade anti-inflamatória em camundongos (10 mg/kg, via oral) no teste de migração leucocitária induzida por carragenina. Na dose testada, esses flavonoides inibiram a migração leucocitária em 49,7%, 43% e 46,3%, respectivamente. Dessa forma os flavonoides parecem justificar, pelo menos em parte, o uso popular dessa espécie.⁴⁹

Em outro projeto interdisciplinar realizado pelo nosso grupo, no qual também se partiu de uma preparação com base no seu uso etnomedicinal, foi estudado o sumo das folhas da espécie *Kalanchoe brasiliensis* (Crassulaceae), também conhecido como saião (Figura 15). Esta planta medicinal é amplamente empregada no Brasil em casos de feridas, abscessos e inflamações em geral.⁵⁰ O estudo do saião foi realizado em parceria com o Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ. A partir das folhas do saião foram isolados sete flavonóis acetil-ramnosídicos, dentre os quais se destacam patuletina 3-*O*-(4"-*O*-acetil- α -L-ramnopiranosil)-7-*O*-(2'''-*O*-acetil- α -L-ramnopiranosídeo) (38), patuletina 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-7-*O*-(2'''-*O*-acetil- α -L-ramnopiranosídeo) (39) e patuletina 3-*O*-(4"-*O*-acetil- α -L-ramnopiranosil)-7-*O*-ramnopiranosídeo (40) – denominados kalambrosídeos A, B e C, respectivamente (Figura 13). Tais flavonoides mostraram ser potentes inibidores da proliferação de linfócitos humanos *in vitro*, em concentração muito inferior à do sumo da planta (IC_{50} = 20 μ g/mL). A inibição da proliferação de linfócitos ameniza os sintomas característicos da inflamação, gerados por estas células. A forma diacetilada com duas unidades de ramnosil (kalambrosídeo A - IC_{50} = 0,5 μ g/mL) foi mais ativa em relação às formas monoacetiladas (kalambrosídeo B - IC_{50} = 1,0 μ g/mL e kalambrosídeo C - IC_{50} = 10 μ g/mL), enquanto que os derivados não acetilados não apresentaram atividade. Esses resultados permitem sugerir que a ação desses flavonoides possa ser dependente da presença de ao menos um grupo acetila na unidade de ramnose.⁵⁰

Um outro estudo biomonitorado, também em parceria com o Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ, focalizou a espécie medicinal *Eleusine indica* (Poaceae) (Figura 15). Esta gramínea – considerada daninha pelos agricultores – é conhecida como capim pé-de-galinha. Popularmente é utilizada no Brasil, sob a forma de chás de suas partes aéreas, em casos de infecções respiratórias, como gripes e pneumonia. A partir do extrato aquoso de suas partes aéreas foram isoladas as flavonas vitexina (41) e shaftosídeo (42) (Figura 14).⁵¹ Esses flavonoides (400 μ g/kg) reduziram

em 80% e 62%, respectivamente, o influxo de neutrófilos pulmonares em camundongos expostos a aerossóis de lipopolissacarídeo (LPS), um modelo que mimetiza a inflamação pulmonar, de maneira dose-dependente.⁵¹ Os resultados alcançados no estudo do capim pé-de-galinha mais uma vez permitem observar que as plantas medicinais aparecem como fonte potencial de flavonoides bioativos - o que pode justificar seu uso popular em processos inflamatórios.

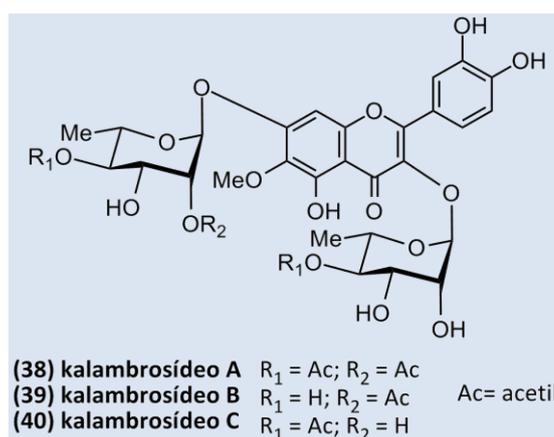


Figura 13. Flavonoides obtidos da espécie medicinal *Kalanchoe brasiliensis*

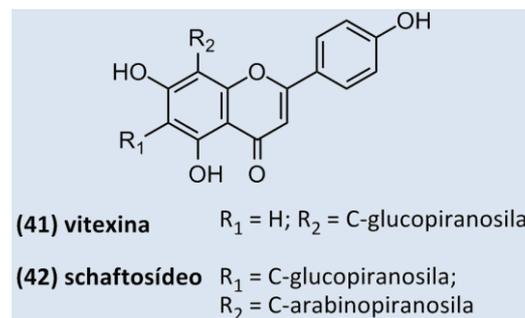


Figura 14. Flavonoides de *Eleusine indica*

Com base nos exemplos mencionados, pode-se observar o potencial farmacológico destas substâncias polifenólicas. A Tabela 1 mostra alguns dos principais flavonoides testados com sucesso em inflamação e seus respectivos alvos.

Estes projetos interdisciplinares entre química e farmacologia resultaram na obtenção de flavonoides ativos frente a processos inflamatórios.

Estudos clínicos vêm sendo realizados em diversas partes do mundo de forma a verificar a eficácia de flavonoides em doenças de origem inflamatória, como por exemplo, a doença pulmonar intersticial, a fibrose pulmonar idiopática, a asma e a sarcoidose pulmonar. Nesses estudos destaca-se o flavonol quercetina.⁵² Além disso, estudos de eficácia envolvendo derivados sintéticos também já estão sendo desenvolvidos.⁵³

Tabela 1. Alguns flavonoides e seus respectivos alvos farmacológicos no processo inflamatório

Alvos farmacológicos	Flavonoides	Referências
1. Modulação de células envolvidas na inflamação (ex. linfócitos e neutrófilos)	Luteolina (14)	7, 27, 39, 40, 47, 48, 49, 50
	Apigenina (13)	
	Miricetina (16)	
	Quercetina (11)	
	Glicosídeos de kaempferol (34-37)	
	Acetil-ramnosídeos de patuletina (38-40)	
2. Inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias (ex. TNF- α e IL-1)	Baohuosídeo (24)	7, 8, 27, 31
	Plantagosídeo (25)	
	Vitexina (41)	
	Shaftosídeo (42)	
	Genisteína (17)	
3. Modulação da enzima formadora de NO (iNOS)	Quercetina (11)	27, 31, 34, 36
	Kaempferol (12)	
	Apigenina (13)	
	Luteolina (14)	
	Miricetina (16)	
	Genisteína (17)	
4. Modulação da enzima fosfolipase A ₂ (via do ácido araquidônico)	Crisina (15)	8, 27, 31
	Quercetina (11)	
	Kaempferol (12)	
	Hesperetina (21)	
	Naringenina (22)	
5. Modulação da enzima ciclo-oxigenase (via do ácido araquidônico)	Miricetina (16)	27, 31, 34, 36, 37
	Quercetina (11)	
	Kaempferol (12)	
	Crisina (15)	
	Apigenina (13)	
	Galangina (20)	
6. Modulação da enzima lipo-oxigenase (via do ácido araquidônico)	Luteolina (14)	27, 34, 36, 43
	Morina (18)	
	Rutina (19)	
	Quercetina (11)	
	Kaempferol (12)	
	Morina (18)	
Miricetina (16)		
Centaureidina (26)		
5,3'-di-hidróxi-4'-metoxi-7-carbometoxiflavonol (27)		

**Figura 15.** Algumas das espécies medicinais estudadas pelo nosso grupo de pesquisa (A: *Sedum dendroideum*, Crassulaceae; B: *Kalanchoe brasiliensis*, Crassulaceae; C: *Eleusine indica*, Poaceae)

[Fotos do acervo do LPN-Bio, NPPN, UFRJ]

5. Relação estrutura-atividade

Estudos relacionando a estrutura-atividade de flavonoides são importantes no processo de busca de novos agentes anti-inflamatórios. Estes estudos objetivam identificar os grupos funcionais responsáveis pela ação farmacológica e entender melhor como se dá a interação do flavonoide com o receptor, de forma a poder aperfeiçoar a molécula original em termos de atividade.^{54,55}

Em estudo recente,⁵⁶ quercetina foi comparada com seus análogos estruturais luteolina, kaempferol e taxifolina, frente à ação inibitória da formação de LTB₄ (Figura 16). Observou-se que o grupamento hidroxila da posição 3' (anel B), formando um sistema *orto* di-hidroxilado com a hidroxila em 4', desempenha um importante papel para esta atividade, quando comparado com o grupamento hidroxila da posição 3 (anel C). A ausência da hidroxila em 3 (anel C) na luteolina não acarreta efeito significativo na atividade inibitória, enquanto que a ausência da hidroxila em 3' (anel B) no kaempferol, com consequente perda do sistema *orto* di-hidroxilado, reduz seu efeito em 60%, quando comparados com a quercetina. Adicionalmente, se observa que a ligação dupla entre as posições 2-3 do anel C também é um requisito estrutural para a atividade anti-inflamatória, visto que a sua ausência ocasiona a perda da atividade inibitória da síntese de LTB₄, conforme observado para o análogo taxifolina.⁵⁶ Há outros relatos da importância desta ligação dupla em demais ações relacionadas, dentre as quais se incluem: inibição da proliferação de linfócitos, inibição das enzimas iNOS, COX e PLA₂.^{7,55}

A deslocalização de elétrons π gerada pela extensão de conjugação presente na estrutura dos flavonoides (carbonila cetônica em C4, ligação dupla C2-C3 e anel B) permite uma maior estabilidade das

espécies intermediárias formadas, fato que favorece as reações químicas envolvidas.^{54,57} Tais evidências são comprovadas através de estudos teóricos de modelagem molecular.⁵⁷ Além disso, o grupamento catecol (1,2-di-hidróxifenil) no anel B promove possibilidades para a ocorrência de oxidação enzimática, resultando na formação de espécies eletrofílicas do tipo quinona/semiquinona capazes de sofrer adição nucleofílica. Dessa forma, atuam como eletrófilos ligantes de macromoléculas (por exemplo, proteínas), acarretando em reações que envolvam a formação de ligações covalentes entre flavonoides e as biomacromoléculas.⁵⁸

Um outro estudo mostra que a flavanona hesperetina (**21**) apresenta menor atividade inibitória da enzima fosfolipase A₂ (PLA₂) em relação aos flavonóis kaempferol (**12**), quercetina (**11**) e miricetina (**16**). Tal resultado mais uma vez reforça a importância da ligação dupla nas posições 2-3 (Anel C), ausente em hesperetina, para a atividade.⁸ De acordo com Lättig *et al.*⁵⁵, em seu estudo de modelagem molecular, a ligação dupla entre as posições 2-3 do anel C induz coplanaridade entre os anéis A e C, favorecendo a interação do flavonoide com o sítio receptor da enzima.⁵⁵

Em um outro estudo, Kim *et al.*⁸ relatam que a presença de grupamentos hidroxilas nas posições 5 e 7 (Anel A) e nas posições 3' e 4' (Anel B) são importantes, enquanto que a glicosilação desses grupos reduz a atividade anti-inflamatória.⁸ Quercetina (**11**) e seu glicosídeo quercitrina (quercetina-3-O- α -ramnopiranosídeo) constituem um exemplo para se avaliar a importância da glicosilação. Ambos inibiram a produção de PGE₂ e LTB₄ em modelo de pleurite induzida em ratos, porém quercitrina apresentou menor atividade do que a sua aglicona.⁵⁹

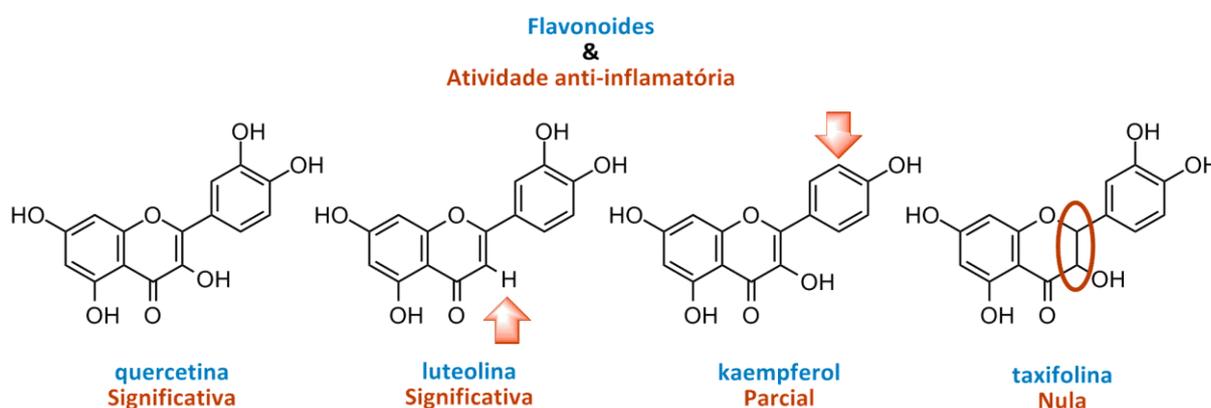


Figura 16. Relação estrutura-atividade entre quercetina e seus análogos estruturais

Um outro exemplo que mostra a interferência da glicosilação na atividade anti-inflamatória focaliza quercetina (11), seu glicosídeo rutina (19), o flavonol morina (18) e o glicosídeo hesperidina (hesperetina-7-O-rutinosídeo) frente à formação de edema na pata de camundongo induzido por carragenina. Rotelli *et al.*⁶⁰ observaram que as agliconas (quercetina e morina) apresentaram melhores resultados, enquanto que os flavonoides glicosilados não apresentaram atividade significativa (rutina e hesperidina).⁵⁹ Anteriormente, Moroney *et al.*⁶¹ em estudo comparativo entre pares glicosídeo/aglicona também observaram que a adição de resíduos de açúcar reduz significativamente a atividade anti-inflamatória.⁶¹ Esses resultados permitem observar que a lipofilicidade torna-se um importante fator.

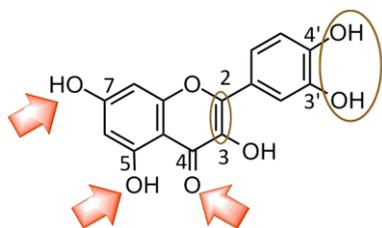


Figura 17. Requisitos estruturais observados para atividade anti-inflamatória de flavonoides.

Assim, conforme observado nos exemplos citados, dentre os fatores estruturais importantes para atividade anti-inflamatória de flavonoides destacam-se a insaturação no anel C (posições 2-3), o número e a posição de grupamentos hidroxilas (por exemplo: padrão catecol no anel B do flavonoide, ou seja, anel 3',4'-di-hidroxilado), a carbonila em C-4 (Anel B) e a não glicosilação da molécula. Entretanto, subclasses de flavonoides que não possuem um destes padrões em sua estrutura, como por exemplo, a aglicona kaempferol, também se destacam por apresentar atividade sobre enzimas da cascata de inflamação. Os requisitos estruturais atualmente aceitos para atividade anti-inflamatória de flavonoides são mostrados na Figura 17.

6. Conclusões

O uso de espécies medicinais como fonte de substâncias bioativas permanece uma estratégia promissora que pode contribuir para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas. O Brasil, detentor de aproximadamente um terço da flora mundial, possui um grande número de plantas

que vêm sendo utilizadas pela população para diferentes fins, especialmente no tratamento da inflamação.

Neste contexto, por apresentarem ações anti-inflamatórias e imunomoduladoras comprovadas cientificamente, os flavonoides constituem uma alternativa potencial como agentes terapêuticos frente aos processos inflamatórios.

Tais evidências nos levam a crer que é possível, através da realização de estudos interdisciplinares, sobretudo com base na prospecção de plantas medicinais usadas pela população no tratamento de processos inflamatórios, a busca, o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de novas moléculas eficazes para aplicação na terapêutica da inflamação.

Agradecimentos

Marcela A. S. Coutinho agradece a CAPES pelo apoio financeiro concedido. As autoras são gratas ao Dr. Jean-Pierre Férézou (Ecole Polytechnique, Palaiseau, France) por suas críticas construtivas na elaboração do manuscrito. Nosso agradecimento ao Dr. Benjamin Gilbert (FIOCRUZ) pela revisão do abstract.

Referências Bibliográficas

- ¹ Cotran, R. S.; Kumar, V.; Collins, T. (Trad. Barbosa, J. B.; De Vasconcelos, M. M.; Voeux, P. J.); *Robbins – Patologia Estrutural e Funcional*, 6ª ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2000.
- ² Luengo, M. B. *Rev. Eletrôn. Farm.* **2005**, *2*, 64. [[Link](#)]
- ³ Abbas, A. K.; Lichtman, A. H.; Pillai, S. (Trad. Farias, A. S.); *Imunologia Celular e Molecular*, 6ª ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2008.
- ⁴ Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J. (Trad. Do Nascimento, A. P.); *Farmacologia*, 6ª ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2007.
- ⁵ Botting, R. M. *J. Thermal Biol.* **2006**, *21*, 208. [[CrossRef](#)]
- ⁶ Sautebin, L. *Fitoterapia* **2000**, *71*, S48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷ López-Posadas, R.; Ballester, I.; Abadía-Molina, A. C.; Suárez, M. D.; Zarzuelo, A.; Martínez-Augustin, O.; de Medina, F. S. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ⁸ Kim, H. P.; Son, K. H.; Chang, H. W.; Kang, S. S. *J. Pharmacol. Sci.* **2004**, *96*, 229. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹ Bazan, N. G.; Flower, R. J. *Nature* **2002**, *420*, 135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰ Viegas Jr, C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J. *Quim. Nova* **2006**, *29*, 326. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Speel, H.-C. Dutch treeguide at Bomengids.nl. Disponível em: <<http://www.bomengids.nl/index.html>>. Acesso em 12 julho 2009
- ¹² Bricks, L. F.; Silva, C. A. A. *Pediatrics (São Paulo)* **2005**, *27*, 181. [[Link](#)]
- ¹³ Anvisa, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa aumenta controle sobre a venda de antiinflamatórios). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/05_1108_1.htm>. Acesso em: 7 novembro 2008.
- ¹⁴ Balunas, M. J.; Kinghorn, A. D. *Life Sci.* **2005**, *78*, 431. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Fabricant, D. S.; Farnsworth, N. R. *Environ. Health Persp.* **2001**, *109*, 69. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Calixto, J. B. *Cienc. Cult.* **2003**, *55*, 37. [[Link](#)]
- ¹⁷ Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ Aché (detalhe do produto Acheflan). Disponível em: <<http://www.ache.com.br/Production/Product.aspx?ProductId=4>>. Acesso em: 9 março 2009.
- ¹⁹ Servier (Daflon 500 mg: product description). Disponível em: <<http://www.servier.com/pro/venous/daflon/daflon.aspx?id=658>>. Acesso em: 25 março 2009.
- ²⁰ Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia - da Planta ao Medicamento*, 5ª ed., Editora da UFSC: Santa Catarina, 2004.
- ²¹ Tolstikova, T. G.; Sorokina, I. V.; Tolstikov, G. A.; Tolstikov, A. G.; Flekhter, O. B. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2006**, *32*, 37. [[CrossRef](#)]
- ²² Brinker, A. M.; Ma, J.; Lipsky, P. E.; Raskin, I. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 732. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Ramsewak, R. S.; Nair, M. G.; Strasburg, G. M.; Dewitt, D. L.; Nitiss, J. L. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Bubenyák, M.; Noszál, B.; Kóczyán, K.; Takács, M.; Béni, S.; Hermeicz, I.; Kökösi, J. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5711. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ Ban, H. S.; Lee, S.; Kim, Y. P.; Yamaki, K.; Shin, K. H.; Ohuchi, K. *Biochem. Pharmacol.* **2002**, *64*, 1345. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁶ Kassuya, C. A. L.; Silvestre, A.; Jr, O. M. L.; Marotta, D. M.; Rehder, V. L. G.; Calixto, J. B. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, *546*, 182. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Silván, A. M.; Abad, M. J.; Bermejo, P.; Sollhuber, M.; Villar, A. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 1183. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ Middleton, E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T. C. *Pharmacol. Rev.* **2000**, *52*, 673. [[PubMed](#)]
- ²⁹ Havsteen, B. H. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *96*, 67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Veitch, N. C.; Grayer, R. E. *J. Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 555. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Nijveldt, R. J.; Nood, E.; Hoorn, D. E. C.; Boelens, P. G.; Norren, K.; Leeuwen, P. A. M. *Am. J. Clin. Nutr.* **2001**, *74*, 418. [[PubMed](#)]
- ³² Cazarolli, L. H.; Zanatta, L.; Alberton, E. H.; Figueiredo, M. S. R. B. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*, 1429. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Tahara, S. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **2007**, *71*, 1387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁴ Boots, A. W.; Haenen, G. R. M. M.; Bast, A. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *585*, 325. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Yoon, J. H.; Baek, S. J. *Yonsei Med. J.* **2005**, *46*, 585. [[PubMed](#)]
- ³⁶ Biesalski, H. K. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2007**, *10*, 724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁷ Santangelo, C.; Vari, R.; Scazzocchio, B.; di Benedetto, R.; Filesi, C.; Masella, R. *Ann Ist Super Sanità* **2007**, *43*, 394. [[PubMed](#)]
- ³⁸ O'Leary, K. A.; de Pascual-Tereasa, S.; Needs, P. W.; Bao, Y. P.; O'Brien, N. M.; Williamson, G. *Mutat. Res., Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **2004**, *551*, 245. [[PubMed](#)]
- ³⁹ Souza, M. F.; Rao, V. S. N.; Silveira, E. R. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1992**, *25*, 1029. [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Yamada, H.; Nagai, T.; Takemoto, N.; Endoh, H.; Kiyohara, H.; Kawamura, H.; Otsuka, Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *165*, 1292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Li, S. Y.; Ping, G.; Geng, L.; Seow, W. K.; Thong, Y. H. *Int. J. Immunopharm.* **1994**, *16*, 227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Abad, M. J.; Bermejo, P.; Villar, A.; Valverde, S. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 1164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ⁴³ Martinez, J.; Silván, A. M.; Abad, M. J.; Bermejo, P.; Villar, A. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Abad, M. J.; Bermejo, P.; Villar, A. *Gen. Pharmacol.* **1995**, *26*, 815. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Clavin, M.; Gorzalczany, S.; Macho, A.; Muñoz, E.; Ferraro, G.; Acevedo, C.; Martino, V. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *112*, 585. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Rogerio, A. P.; Kanashiro, A.; Fontanari, C.; da Silva, E. V. G.; Lucisano-Valim, Y. M.; Soares, E. G.; Faccioli, L. H. *Inflammation Res.* **2007**, *56*, 402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Inaba, H.; Tagashira, M.; Honma, D.; Kanda, T.; Kou, Y.; Ohtake, Y.; Amano, A. *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, *31*, 527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ De Melo, G. O.; Malvar, D. C.; Vanderlinde, F. A.; Pires, P. A.; Côrtes, W. S.; Filho, P. G.; Muzitano, M. F.; Kaiser, C. R.; Costa, S. S. *J. Ethnopharmacol.* **2005a**, *102*, 217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ De Melo, G. O.; Malvar, D. C.; Vanderlinde, F. A.; Rocha, F. F.; Pires, P. A.; Costa, E. A.; De Matos, L. G.; Kaiser, C. R.; Costa, S. S. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *124*, 228. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Costa, S. S.; Jossang, A.; Bodo, B.; Souza, M. L. M.; Moraes, V. L. G. *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 1503. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ De Melo, G. O.; Muzitano, M. F.; Legora-Machado, A.; Almeida, T. A.; de Oliveira, D. B.; Kaiser, C. R.; Koatz, V. L. G.; Costa, S. S. *Planta Med.* **2005**, *71*, 362. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵² Clinical Trials (Portal Clinical Trials). Disponível em: <<http://clinicaltrials.gov>>. Acesso em: 19 abril 2009.
- ⁵³ Howes, L. G.; James, M. J.; Florin, T.; Walker, C. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2007**, *16*, 1255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Theoharides, T. C.; Alexandrakis, M.; Kempuraj, D.; Lytinas, M. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* **2001**, *14*, 119. [[PubMed](#)]
- ⁵⁵ Lättig, J.; Böhl, M.; Fischer, P.; Tischer, S.; Tietböhl, C.; Menschikowski, M.; Gutzeit, H. O.; Metz, M.; Pisabarro, M. T. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2007**, *21*, 473. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁶ Loke, W. M.; Proudfoot, J. M.; Stewart, S.; McKinley, A. J.; Needs, P. W.; Kroon, P. A.; Hodgson, J. M.; Croft, K. D. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *75*, 1045. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Trouillas, P.; Marsal, P.; Siri, D.; Lazzaroni, R.; Duroux, J. L. *Food Chem.* **2006**, *97*, 679. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Rawel, H. M.; Rohn, S.; Kroll, J. *Int. J. Biol. Macromol.* **2003**, *32*, 109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A. A.; Capasso, F. *Life Sci.* **1999**, *65*, 337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁰ Rotelli, A. E.; Guardia, T.; Juárez, A. O.; de La Rocha, N. E.; Pelzer, L. E. *Pharmacol. Res.* **2003**, *48*, 601. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹ Moroney, M. A.; Alcaraz, M. J.; Forder, R. A.; Carey, F.; Houtt, J. R. *J. Pharm. Pharmacol.* **1988**, *40*, 787. [[PubMed](#)]